

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : B01D 15/08, B01J 8/04, B01D 53/04, G01N 30/48		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/03242 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Januar 1998 (29.01.98)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/03601		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 8. Juli 1997 (08.07.97)		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
(30) Prioritätsdaten: 196 29 208.5 19. Juli 1996 (19.07.96) DE 197 26 151.5 20. Juni 1997 (20.06.97) DE			
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Egbert [DE/DE]; Elbestrasse 70, D-64390 Erzhausen (DE). SCHULTE, Michael [DE/DE]; Im großen Ramsee 20, D-64428 Rüsselsheim (DE). WIELAND, Gerhard [DE/DE]; Im Bangert 19, D-64625 Bensheim (DE). CABRERA, Karin [DE/DE]; Mühlgasse 14, D-63303 Dreieich (DE). DELP, Axel [DE/DE]; Bahnhofstrasse 29, D-64407 Fränkisch-Crumbach (DE). LUBDA, Dieter [DE/DE]; Im Bangert 21 c, D-64625 Bensheim (DE).			
(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Postfach, D-64271 Darmstadt (DE).			
(54) Titel: USE OF NON-PARTICULATE SORBENTS FOR SIMULATED MOVING BED SEPARATING METHODS			
(54) Bezeichnung: VERWENDUNG NICHT-PARTIKULÄRER SORBENTIEN FÜR "SIMULATED MOVING BED" TRENNVERFAHREN			
(57) Abstract			
<p>The invention concerns the use of non-particulate sorbents for preparative separating methods, in particular for separating methods operating according to the simulated moving bed (SMB) principle. In particular, the invention concerns the use of monolithic sorbents based on porous shaped bodies which comprise interconnected macropores and mesopores in the macropore walls, the diameter of the macropores having a median of more than 0.1 µm, and the diameter of the mesopores having a median of between 2 and 100 nm. The invention also concerns the use of sorbents consisting of modified polyamide containing separation effectors that are bonded to the polyamide amino groups via a bridge group for separation methods carried out according to the simulated moving bed (SMB) principle.</p>			
(57) Zusammenfassung			
<p>Es wird die Verwendung von nicht-partikulären Sorbentien für präparative Trennverfahren, insbesondere für Trennverfahren nach dem "simulated moving bed" - Prinzip (SMB) offenbart. Insbesondere wird die Verwendung von monolithischen Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist, und die Verwendung von Sorbentien aus modifiziertem Polyamid, das Separationseffektoren enthält, die über eine Brückengruppierung an die Aminogruppen des Polyamids gebunden sind, für Trennverfahren nach dem "simulated moving bed" - Prinzip (SMB) offenbart.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäß dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	RS	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Letland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige Jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Grönland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irländ	MR	Marokko	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Irland	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LJ	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		

**Verwendung nicht-partikulärer Sorbentien
für "Simulated Moving Bed" Trennverfahren**

5 Die Erfindung betrifft die Verwendung von nicht-partikulären Sorbentien,
 insbesondere solchen, die Separationseffektoren enthalten, für "Simulated
 Moving Bed" Trennverfahren.

10 Für die Wirtschaftlichkeit von präparativen Stofftrennungen sind die
 Erzielung hoher Flußraten, kurzer Elutionszeiten und die Einhaltung
 moderater Betriebsdrücke wesentliche Faktoren. Bei präparativen
 Stofftrennungen haben Gegenstromverfahren an Bedeutung gewon-
 nen. Da es technisch nur sehr schwer möglich ist, eine tatsächliche
 Bewegung einer stationären Phase zu realisieren, wird die Bewe-
 gung der stationären Phase simuliert. Dazu wird das gesamte
15 Säulenbett in zyklisch hintereinandergeschaltete Einzelsäulen unter-
 teilt. Die Gesamtzahl der Säulen ist typischerweise ein Vielfaches
 von vier, da ein solches System vier chromatographische Zonen
 besitzt. Nach einer definierten Zeit werden die Leitungen um-
 geschaltet, wodurch eine Bewegung des Säulenbettes in der entge-
20 gengesetzten Richtung simuliert wird. Für das kontinuierliche Ver-
 fahren der "simulated moving bed"- Chromatographie (SMB-Chroma-
 tographie) werden üblicherweise als Trennmaterialien partikuläre
 Sorbentien verwendet. Die dabei verwendeten Säulenpackungen lassen
 keine optimalen Flußraten zu, da der Betriebsdruck bei partikulären
25 Trägern sehr hoch ist. Auch ist die mechanische Stabilität der partikulären
 Sorbensbetten nicht sehr gut. Weiterhin ist es für die SMB-Chromato-
 graphie notwendig, eine Reihe chromatographischer Säulen (typischer-
 weise bis zu 24) mit möglichst gleichen Eigenschaften bereitzustellen.
 Dies ist bei partikulären Sorbensbetten nur mit großem Aufwand beim
30 Packen der Säulen und bei der Auswahl der gepackten Säulen
 realisierbar.

Aufgabe der Erfindung ist es, chromatographische präparative Trennverfahren, insbesondere für die SMB-Verfahren bereitzustellen, die bei moderatem Betriebsdruck hohe Flußraten aufweisen. Somit kann ein höherer Durchsatz pro Zeiteinheit erzielt werden.

5

Es wurde gefunden, daß nicht-partikuläre Sorbentien, insbesondere monolithische Sorbentien oder Sorbentien auf der Grundlage von derivatisierten Membranen, für Trennverfahren mit hohen Flußraten eingesetzt werden können; somit kann bei niederm Betriebsdruck ein höherer Durchsatz pro Zeiteinheit erzielt werden.

10

Gegenstand der Erfindung sind Verfahren zur präparativen chromatographischen Trennung mindestens zweier Substanzen, insbesondere nach dem SMB-Verfahren, wobei als stationäre Phase ein nicht-partikuläres Sorbens, insbesondere ein monolithisches Sorbens oder ein Sorbens auf der Grundlage von derivatisierten Membranen, verwendet wird.

15

Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung des Verfahrens der Gegenstromchromatographie, das die Grundlage der "simulated moving bed"-Chromatographie (SMB-Chromatographie) darstellt.

20

Abbildung 2 zeigt eine präparative Trennung eines Testgemisches aus Tolulol, 2-Nitroacetanilid und 3-Nitroacetanilid bei unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten der mobilen Phase (Abb. 2a: 40 ml/min; Abb. 2b: 130 ml/min; Abb. 2c: 200 ml/min). Experimentelle Einzelheiten sind in Beispiel 1 beschrieben.

25

Abbildung 3 zeigt die Trennung von Dimethylphthalat/Dibutylphthalat an einer C₁₈-RP-Phase. Experimentelle Einzelheiten sind in Beispiel 2 beschrieben.

30

Abbildung 4 zeigt das Elutionsdiagramm einer Trennung von Chymotrypsinogen A und Lysozym nach dem SMB-Verfahren an einem Trennmittel aus porösem modifizierten Polyamid, das SO₃⁻-Gruppen als Separationseffektoren enthält, wobei die SO₃⁻-Gruppen über eine Brückengruppierung an die Aminogruppen des Polyamids gebunden sind.

Experimentelle Einzelheiten sind in Beispiel 3 beschrieben.

Gebräuchliche partikuläre Sorbentien bestehen aus diskreten Sorbenteilchen, die in ein durch Filterelemente abschlossenes Rohr eingefüllt werden und das Sorbensbett ergeben. Partikuläre Sorbentien bestehen aus sferischen oder unregelmäßig geformten Partikeln, deren Partikeldimensionen im Bereich von ca. 1 µm bis zu 1 mm, insbesondere von 5 µm bis 500 µm, liegen. Dabei ist die erreichbare Trennstufenhöhe abhängig von der Partikelgröße und wird mit niedrigerer Partikelgröße geringer, d.h. die erreichbare chromatographische Auflösung wird besser. Allerdings steigt mit fallender Partikelgröße der Druckabfall bei gleichem linearen Fluß an, so daß bei kleinen Partikeln der lineare Fluß durch den handhabbaren Betriebsdruck begrenzt ist. Außerdem beobachtet man bei partikulären Sorbentien eine ausgeprägte Abhängigkeit der Trennleistung vom linearen Fluß (steile H/u-Kurven). Insgesamt weisen die für die Trennleistung und Wirtschaftlichkeit relevanten Parameter bei partikulären Sorbentien eine starke gegenseitige Abhängigkeit auf, die die Prozeßoptimierung insbesondere für präparative Anwendungen erschwert. Im Gegensatz zu gebräuchlichen partikulären Sorbentien, bei deren Verwendung stets ein Kompromiß zwischen Druckabfall in der sorbensgefüllten Säule, erreichbare Trennstufenhöhe und Abhängigkeit der Trennleistung vom linearen Fluß (H/u-Kurve) eingegangen werden muß, zeigt es sich, daß diese Parameter bei nicht-partikulären Sorbentien wesentlich weniger streng gekoppelt sind.

Es zeigte sich überraschenderweise, daß bei der Verwendung von nicht-partikulären, insbesondere monolithischen Sorbentien die H/u-Kurven flach sind. Weiterhin werden bei nicht-partikulären Sorbentien, die einen geringen Druckabfall verursachen, niedrige Trennstufenhöhen gefunden. Durch lassen sich präparativ-chromatographische Trennverfahren, insbesondere solche nach dem SMB-Verfahren, unter Verwendung von nicht-partikulären Sorbentien wesentlich besser als bei Verwendung von partikulären Sorbentien optimieren; die Wirtschaftlichkeit dieser Prozesse kann bedeutend verbessert werden.

10

Der erfindungsgemäß verwendete Begriff "nicht-partikuläre" Sorbentien stellt den Gegensatz zu bekannten oben gekennzeichneten partikulären Sorbentien dar, bei denen das Sorbensbett aus einzelnen diskreten Partikeln besteht. Sowohl monolithische Sorbentien als auch mit Separationseffektoren derivatisierte Membranen werden von dem Begriff nicht-partikuläre Sorbentien umfaßt.

Monolithische Sorbentien sind grundsätzlich aus der Literatur bekannt; dazu gehören vor allem poröse keramische Formkörper, wie sie in WO 94/19 687 und in WO 95/03 256 offenbart sind. Von dem Begriff monolithische Sorbentien werden im weiteren Sinn auch Formkörper aus Polymerisaten umfaßt, wie sie in EP 0 407 560 und von F. Svec und J.M. Frechet (1992) Anal. Chem. 64, Seiten 820 - 822, und von S. Hjerten et al. (1989) J. Chromatogr. 473, Seiten 273 - 275, beschrieben wurden.

25 Besonders bevorzugt sind monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist. Derartige monolithische Sorbentien und Verfahren zu ihrer Herstellung sind beispielsweise in WO 95/03 256 offenbart.

Monolithische Sorbentien bestehen also aus Materialien, wie sie für partikuläre Sorbentien im Gebrauch sind. In vielen Fällen (z.B. SiO_2) können diese Sorbentien ohne weiteres für chromatographische Trennungen verwendet werden. Häufiger jedoch werden die Basisträger derivatisiert, um die Trenneigenschaften zu verbessern; dabei werden zusätzliche Gruppierungen eingeführt, die unter der Bezeichnung Separationseffektoren zusammengefaßt werden, und die für die Trennung der Analyte wesentlich sind.

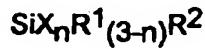
5

10 Mit Separationseffektoren derivatisierte adsorptiv wirksame Membranen sind in WO 91/03 506 und in WO 96/22 316, sowie in PCT/EP97/02 768 offenbart. Besonders bevorzugt ist die Verwendung der in WO 96/22 316 und in PCT/EP97/02 768 offenbarten derivatisierten Polyamidmembranen. Verfahren zur Herstellung dieser Membranen sind in diesen Druckschriften 15 angegeben. Derartige Membranen werden üblicherweise in Vorrichtungen eingesetzt, die sich im wesentlichen wie chromatographische Säulen handhaben lassen. Besonders bevorzugt ist die Verwendung einer Vorrichtung, wie sie in DE 196 03 523.6 (AKZO-Nobel) offenbart ist.

20 Separationseffektoren und Verfahren zu ihrer Einführung in den Basisträger sind dem Fachmann grundsätzlich bekannt.

Beispiele für Reaktionen, mit denen Separationseffektoren in SiO_2 oder ähnliche oxidische Basisträger eingeführt werden können, sind:

25 a) Die Derivatisierung mit Silanderivaten der Formel I



worin

X Methoxy, Ethoxy oder Halogen oder Aminoderivate,

R¹ C₁ - C₅ -Alkyl,

n 1, 2 oder 3

5 bedeuten und

R² eine der im folgenden angegebene Bedeutungen besitzt:

a1) unsubstituiertes oder substituiertes Alkyl oder Aryl, wie z.B.

n-Octadecyl, n-Octyl, Benzyl- oder Cyanopropyl;

a2) anionische oder saure Reste, wie z.B. Carboxypropyl;

10 a3) kationische oder basische Reste, wie z.B. Aminopropyl,

Diethylaminopropyl oder Triethylammoniumpropyl;

a4) hydrophile Reste, wie z.B. (2,3-Dihydroxypropyl)-oxypropyl;

a5) bindungsfähige aktivierte Reste, wie z.B.

(2,3-Epoxypropyl)-oxypropyl.

15

b) Die Adsorption oder chemische Bindung von Polymeren wie Polybutadien, Siloxanen, Polymeren auf der Grundlage von Styrol/ Divinylbenzol, von (Meth)acrylsäurederivaten oder von anderen Vinylverbindungen, sowie von Peptiden, Proteinen, Polysacchariden und Polysaccharidderivaten an dem Basisträger;

20

c) Die chemische Bindung von unter b) genannten Polymeren über die unter a) genannten Derivate; dazu gehören Ppropfpolymerisate von Poly(meth)acrylsäurederivaten auf diolmodifiziertem Kieselgel nach

25 EP-B-0 337 144.

d) Die Adsorption oder chemische Bindung von chiralen Phasen, wie z.B. von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Proteinen, oder von Cyclo-dextrinen, Polysacchariden oder Polysaccharidderivaten.

30

Weitere gebräuchliche Derivatisierungsmöglichkeiten und Derivatisierungsverfahren sind dem Fachmann bekannt und in gängigen Handbüchern wie Unger, K.K. (ed) *Porous Silica*, Elsevier Scientific Publishing Company (1979) oder Unger, K.K. *Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques*, Marcel Dekker (1990) beschrieben.

Weitere Beispiele für verschiedene Separationseffektoren und für Verfahren, die Separationseffektoren in Sorbentien einzuführen, sind in den folgenden Druckschriften genannt:

10

a) Aus DE 38 11 042 sind unter anderem Monomere bekannt, die zur Herstellung von Ionenaustauschern geeignet sind; dazu gehören beispielsweise Acrylsäure, N-(Sulfoethyl)-acrylamid, 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure, N,N-Dimethylaminoethyl-acrylamid, N,N-Diethylaminoethyl-acrylamid, sowie Trimethylammoniumethyl-acrylamid.

15

Andere in dieser Druckschrift genannte Monomere erlauben die Bindung von Affinitätsliganden, oder eignen sich für reversed phase Chromatographie: dazu gehören beispielsweise Acrylsäure, Acrylamid, Allylamin oder Acrylnitril.

20

b) Aus DE 43 10 964 sind Monomere bekannt, die einen Oxiranring, einen Azlactonring oder eine Gruppierung enthalten, die in einen Azlactonring umgesetzt werden kann. Polymere, die derartige Monomere enthalten, sind besonders gut für die Bindung von Affinitätsliganden geeignet. Affinitätsliganden sind beispielhaft in DE 43 10 964 offenbart.

25

30

5 Weiterhin können die Epoxidgruppen in derartigen Polymeren in vorteilhafter Weise weiter umgesetzt werden, wodurch Ionenaustauscher, thiophile Sorbentien oder Sorbentien für die Metallichelat- oder die hydrophobe Chromatographie bereitgestellt werden. Dabei werden beispielweise Phosphorsäure, Diethylamin, Trimethylamin, schweflige Säure oder auch Komplexbildner wie Iminodiessigsäure an den Oxiranring addiert.

10 Die Herstellung von thiophilen Sorbentien und von Sorbentien für die Metallichelatchromatographie ist in DE 43 10 964 offenbart.

15 In DE 43 33 674 und in DE 43 33 821 sind derartige Umsetzungen, mit derer Hilfe Ionenaustauscher bereitgestellt werden können, offenbart.

20 Chirale Trennmaterialien für die Trennung von Enantiomeren sind in großer Anzahl im Stand der Technik bekannt. Es handelt sich ausschließlich um partikuläre Trennmaterialien. Die bekannten chiralen Trennmaterialien bestehen entweder aus der chiralen Verbindung selbst (zum Beispiel Cellulosetriacetat) oder aber ein chiraler Separationseffektor ist auf einen Träger aufgezogen oder chemisch an einen Träger gebunden. Außerdem ist es möglich, chirale Separationseffektoren, die mit einer 25 stationären Phase in Wechselwirkung treten, im Elutionsmittel zuzusetzen (dynamische Belegung).

Chirale Separationseffektoren sind in großer Zahl bekannt; die wichtigsten Gruppen bekannter chiraler Separationseffektoren sind:

5 a) Aminosäuren und ihre Derivate, z.B. L-Phenylalanin, oder D-Phenylalanin, Ester oder Amide von Aminosäuren oder acylierte Aminosäuren oder Oligopeptide;

10 b) natürliche und synthetische Polymere mit einer Asymmetrie oder Disymmetrie in der Hauptkette; dazu gehören Proteine (z.B. saures α -, Glycoprotein, Rinderserumalbumin, Cellulase; siehe J. Chrom. 264, Seiten 63 -68 (1983), J. Chrom. 269, Seiten 71 - 80 (1983), WO 91/12 221), Cellulose und Cellulosederivate, sowie andere Polysaccharide und deren Derivate (z.B. Cellulosetribenzoat, Cellulosetribenzylether, Cellulose-trisphenylcarbamat, Cellulose-tris-3-chlorbenzoat, Amylose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbamat), Cellulose-tris-(3,5-dimethylbenzoat), Cellulose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbamat); siehe EP 0 147 804, EP 0 155 637, EP 0 718 625);

15 c) Cyclodextrine und seine Derivate (z.B. J. High Resol. Chrom. & Chromat. Comm. 3, Seiten 147 - 148 (1984); EP 0 407 412; EP 0 445 604);

d) Polymere mit Asymmetriezentren in der Seitenkette (z.B. EP 0 249 078; EP 0 282 770; EP 0 448 823).

20

Einzelheiten der Herstellung der verschiedenen Sorbentien und deren Verwendung können den oben genannten Druckschriften entnommen werden; die diesbezügliche Offenbarung dieser Druckschriften ist durch Bezugnahme in die vorliegende Anmeldung eingeführt.

25

Die oben genannten nicht-partikulären Sorbentien können in Vorrichtungen zur Stofftrennung enthalten sein, die sich im wesentlichen wie chromatographische Säulen handhaben lassen.

30

5 In Abbildung 1 ist das Verfahren der Gegenstromchromatographie, das die Grundlage der "simulated moving bed"-Chromatographie (SMB-Chromatographie) darstellt, schematisch dargestellt. Darin bedeutet (1) den Strom des Sorbens. Im SMB-Verfahren wird der physikalisch nur schwer zu realisierende Strom des Sorbens simuliert durch cyclisches Umschalten von Mehrwegeventilen, welche mehrere zu einem Kreislauf geschaltete Säulen verbinden.

10 15 Die experimentelle Realisierung der Trennung wird auf einer SMB-Anlage ausgeführt, die nach dem nachfolgend erläuterten Vier-Zonen-Modell arbeitet. Erfindungsgemäß können auch SMB-Anlagen verwendet werden, die nach anderen Modellen, z.B. dem Drei-Zonen-Modell arbeiten. Geeignete Verfahrensvarianten sind dem Fachmann aus der Literatur bekannt.

15 20 Durch das Gegenstromprinzip ist die SMB für die Auftrennung von Zweistoffgemischen (z.B. die beiden Enantiomere eines Racemates) in idealer Weise geeignet. Aber auch für andere chromatographische Trennverfahren sind SMB-Verfahren bekannt. So wird in J. Chromatogr. 719, Seiten 267 - 274 (1996) die Anwendung eines SMB-Verfahrens auf die Reinigung von monoklonalen Antikörpern beschrieben. Auch für die Trennung von Mehrstoffgemischen sind SMB-Verfahren verwendbar. Eine solche Trennung ist beispielsweise in Biosci. Biotech. Biochem. 56, Seiten 801 - 802 (1992) beschrieben. Verfahrensparameter für andere Trennungen kann der Fachmann durch Optimierung festlegen.

25 30 Trennungen nach dem SMB-Verfahren werden im folgenden beispielhaft für Trennungen zweier Substanzen erläutert:

Die kontinuierliche Arbeitsweise des SMB Verfahrens, wie es beispielhaft in Abbildung 1 schematisch dargestellt ist, erlaubt die Einstellung eines zeitlich stationären Zustandes bei dem kontinuierlich Eluent (3), sowie eine Lösung des zu trennenden Zweistoffgemisches (Feed; (4)) dem System zugeführt und ebenso kontinuierlich die beiden getrennten Komponenten (Raffinat (6) und Extrakt (5)) aus dem System herausgeführt werden können. Das Zu- und Herausführen der genannten Stoffströme erfolgt mit Hilfe von 4 Pumpen (nicht dargestellt). Der Hauptstrom des Eluenten (2) wird mit einer weiteren Pumpe im Kreislauf geführt (Recycling-Pumpe; nicht dargestellt). Da deshalb dem System nur eine geringere Menge an frischem Eluenten zugeführt werden muß (Feed + Eluent_(neu) = Raffinat + Extrakt), ist der Lösungsmittelverbrauch pro Produkteinheit bei der SMB deutlich geringer als im Falle der Batch-Chromatographie. Das Säulenbett einer stationären Phase unterteilt sich bei der SMB in 4 Zonen (je eine Adsorptions- und Desorptionszone für die beiden zu trennenden Komponenten), welche relativ zu den Zufuhr- und Auslaßpunkten definiert sind:

Zone I - zwischen Eluent- und Extrakt-Leitung
Zone II - zwischen Extrakt- und Feed-Leitung
Zone III - zwischen Feed- und Raffinat-Leitung
Zone IV - zwischen Raffinat und Eluent-Leitung

Im Falle der Trennung von Zweistoffgemischen lassen sich nun Bedingungen, d.h. Flußraten in den Zonen I-IV, finden, bei denen sich die schwächer retinierte Komponente mit der mobilen Phase und die stärker retinierte Komponente mit der stationären Phase bewegt. Die getrennten Komponenten können dann in reiner Form mit dem Extrakt- beziehungsweise Raffinat-Strom entnommen werden.

Es ist technisch nur sehr schwer möglich, eine tatsächliche Bewegung einer stationären Phase (1) zu realisieren. Deshalb wird diese Bewegung der stationären Phase simuliert. Dazu wird das gesamte Säulenbett in zyklisch hintereinandergeschaltete Einzelsäulen unterteilt. Die Gesamtzahl der Säulen ist ein Vielfaches der Zahl 4, da das System, wie oben erwähnt, 4 chromatographische Zonen besitzt. Zwischen den Einzelsäulen befinden sich je 4 Zweiwegeventile, die eine Verbindung zu den 4 Zufuhr- und Auslaßleitungen darstellen. Aufgrund dieser Ventile, kann also jeder Punkt zwischen den Säulen jede Funktion (Eluent-, Feed-Zufuhr oder Raffinat- bez. Extrakt-Auslaß) einnehmen. Zu einem gegebenen Zeitpunkt definiert die Lage der 4 Zufuhr- und Auslaß-Leitungen die 4 chromatographischen Zonen. Wird nun die Position der 4 Leitungen nach einer definierten Zeit um eine Säuleneinheit in Richtung der Fließmittelbewegung weitergeschaltet, so entspricht dies einer Bewegung des Säulenbettes in die entgegengesetzte Richtung. Durch Weiterschaltung der Speisepunkte in definierten Zeitabständen durchläuft damit jede Einzelsäule nacheinander alle 4 Zonen, bis die Zufuhr- und Auslaß-Leitungen wieder ihre ursprüngliche Position einnehmen und somit ein Zyklus abgeschlossen ist.

Nachdem mehrere Zyklen durchlaufen wurden, stellt sich ein stationärer Zustand ein, der es bei geeigneter Wahl der Fließgeschwindigkeiten im System und geeigneter Taktzeit für die Ventilschaltungen ermöglicht, die getrennten Produkte in reiner Form als Extrakt- und Raffinatströme abzunehmen.

Es wurde gefunden, daß bei Verwendung dieser bevorzugten Sorbentien die Flußgeschwindigkeit über einen weiten Bereich variiert werden kann, ohne daß die Trenneigenschaften dabei verschlechtert werden. Unter Ausnutzung dieser Eigenschaft ist es möglich, die Flußgeschwindigkeit an 5 das Elutionsprofil anzupassen, ohne daß die Trennleistung verringert wird. Dadurch kann der Zeitbedarf der Trennung stark reduziert werden. Insbesondere für präparative Trennungen ergeben sich somit große Vorteile. Für die Anwendung des SMB-Verfahrens ist auch der geringe Druckabfall 10 bei hoher Flußgeschwindigkeit relevant, da bei diesem Verfahren eine Anzahl Säulen hintereinander geschaltet werden.

Die übliche Fließgeschwindigkeit einer Säule der Dimension 25 mm Durchmesser, die mit partikulären Teilchen gepackt ist, beträgt 40 ml/min. Wie Beispiel 1 im einzelnen zeigt, lassen die nichtpartikulären Träger eine wesentlich höhere Betriebsgeschwindigkeit zu. Dadurch kann die Trennaufgabe wesentlich ökonomischer gelöst werden. 15

Durch Injektion steigender Konzentrationen der Komponenten (beispielsweise 100, 300, 600 µl je Komponente) und Auswertung mittels ECP-Methode (Elution by characteristic points) wie in Guiochon, Shirazi, Katti, *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Boston, 1994, Seite 83 f beschrieben, können die Adsorptionsisothermen der Komponenten bestimmt werden. 20

25 Beispielsweise (siehe Beispiel 2) wurden für die Komponenten A (Dimethylphthalat) und B (Dibutylphthalat) folgende modifizierten Langmuir-Isothermen gefunden:

$$\bar{C}_A = 1,1 \cdot C_A + \frac{0,0735 \cdot C_A}{1 + 0,000735 \cdot C_A + 0,0175 \cdot C_B}$$

$$30 \bar{C}_B = 1,1 \cdot C_B + \frac{1,75 \cdot C_B}{1 + 0,000735 \cdot C_A + 0,0175 \cdot C_B}$$

Aus den ermittelten Isothermen können nach dem in R.M.Nicoud, F.Charton, J.Chromatogr. 702 (1995) 97 ff beschriebenen Verfahren, beispielsweise mit Hilfe der Simulationssoftware HELP, die Trennbedingungen für ein geeignetes SMB-System bestimmt werden:

5

Säulendimension [mm]	93 * 25
Anzahl Säulen	8
Flußrate Feed [ml/min]	1,9
Feedkonzentration [g/l]	320 +320
Flußrate Recycling [ml/min]	44,1
Flußrate Raffinat [ml/min]	2,9
Flußrate Extrakt [ml/min]	21,8
Zyklussschaltzeit [min]	2,24
Konzentration Raffinat [g/l]	209,7
Konzentration Extrakt [g/l]	27,89
Reinheiten Raffinat/Extrakt	> 99,9

10

15

20

25

30

Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung in weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs als in irgendeine Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, sowie der korrespondierenden Anmeldungen DE 196 29 208.5, eingereicht am 19.07.1996, und DE 197 26 151.5, eingereicht am 20.06.1997 sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

Beispiele

Die folgende Beispiele soll die Erfindung verdeutlichen; sie bedeuten keine Einschränkung des Erfindungsgedankens.

5

Beispiel 1: Trennung von Toluol, 2-Nitroacetanilid und 3-Nitroacetanilid bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten

10 Eine Probe enthaltend Toluol, 2-Nitroacetanilid und 3-Nitroacetanilid wird bei unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten der mobilen Phase getrennt:

Bedingungen:

15 Sorbens: monolithisches Sorbens (SiO_2 ; 93 * 25 mm)
 mobile Phase: n-Heptan/Dioxan (90/10; v/v)
 Probenvolumen: 40 μl
 Detektion: UV 254 nm
 Flußrate: 40, 130, 200 ml/min

20

	Abb. 2a	Abb. 2b	Abb. 2c
Flußrate [ml/min]	40	130	200
Bodenzahl [N] 2-Nitroacetanilid	503	524	495
Bodenzahl [N] 3-Nitroacetanilid	465	465	445
Druck [bar]	9	35	55

25

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 2a - 2 c zusammengefaßt. Die übliche Fließgeschwindigkeit einer Säule der Dimension 25 mm Durchmesser, die mit partikulären Teilchen gepackt ist, beträgt 40 ml/min. Die nichtpartikulären Träger lassen somit eine wesentlich höhere Betriebsgeschwindigkeit zu, was zu deutlich verbesserter Ökonomie der Trennaufgaben führt.

30

**Beispiel 2: Ermittlung der Prozeßparameter für eine SMB-Trennung
von Dimethylphthalat und Dibutylphthalat**

5 Dimethylphthalat und Dibutylphthalat werden in verschiedenen Mengen
aufgetragen und getrennt:

Bedingungen:

Sorbens: monolithisches Sorbens (C_{18} -RP-derivatisiertes SiO_2 ;
93 * 25 mm)

10 mobile Phase: Methanol/Wasser (80/20; v/v)

Probenvolumen: 50, 100 300, 600 μl

Detektion: UV 300 nm

Flußrate: 40 ml/min

15 Für die Komponenten A (Dimethylphthalat) und B (Dibutylphthalat) wurden
folgende modifizierten Langmuir-Isothermen gefunden:

$$\bar{C}_A = 1,1 \cdot C_A + \frac{0,0735 \cdot C_A}{1 + 0,000735 \cdot C_A + 0,0175 \cdot C_B}$$

$$20 \quad \bar{C}_B = 1,1 \cdot C_B + \frac{1,75 \cdot C_B}{1 + 0,000735 \cdot C_A + 0,0175 \cdot C_B}$$

25

30

Aus den ermittelten Isothermen wurden nach dem in R.M.Nicoud, F.Charton, J.Chromatogr. 702 (1995) 97 beschriebenen Verfahren mit Hilfe der Simulationssoftware HELP die Trennbedingungen für die SMB-Trennung bestimmt:

5

10

15

20

25

30

Säulendimension [mm]	93 * 25
Anzahl Säulen	8
Flußrate Feed [ml/min]	1,9
Feedkonzentration [g/l]	320 +320
Flußrate Recycling [ml/min]	44,1
Flußrate Raffinat [ml/min]	2,9
Flußrate Extrakt [ml/min]	21,8
Zyklussschaltzeit [min]	2,24
Konzentration Raffinat [g/l]	209,7
Konzentration Extrakt [g/l]	27,89
Reinheiten Raffinat/Extrakt	> 99,9

Beispiel 3: Trennung von Chymotrypsinogen A und Lysozym

Hohlfasermodule (FRACTOSEP® SO₃, Fa. Merck KGaA), wie sie in DE 195 01 726.9 offenbart werden, werden anstelle der üblichen Säulen in eine SMB-Anlage (Fa. NOVASEP) eingebaut. 100 µl einer Lösung, die Chymotrypsinogen A und Lysozym (jeweils 10 g/l) in 0,3 M NaCl und 20 mM Natriumphosphatpuffer (pH 7,0) enthält, werden aufgetragen und isokratisch entwickelt. Die Verfahrensparameter werden nach Bestimmung der Adsorptionsparameter durch das Programm "HELP", das Teil der Anlagensteuerung ist, ermittelt. Das Elutionsdiagramm ist in Abbildung 4 dargestellt.

Ansprüche

1. Verfahren zur Trennung mindestens zweier Substanzen nach dem "simulated moving bed" - Verfahren, dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung unter Verwendung nicht-partikulärer Sorbentien erfolgt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei ein monolithisches Sorbens auf der Grundlage von von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist, als nicht-partikuläres Sorbens verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei ein Sorbens aus modifiziertem Polyamid, das Separationseffektoren enthält, die über eine Brückengruppierung an die Aminogruppen des Polyamids gebunden sind, als nicht-partikuläres Sorbens verwendet wird.
4. Verwendung von nicht-partikulären Sorbenzien für Trennverfahren nach dem "simulated moving bed" - Verfahren.
5. Verwendung nach Anspruch 4, wobei ein monolithisches Sorbens auf der Grundlage von von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist, als nicht-partikuläres Sorbens verwendet wird.

6. Verwendung nach Anspruch 4, wobei ein Sorbens aus modifiziertem Polyamid, das Separationseffektoren enthält, die über eine Brückengruppierung an die Aminogruppen des Polyamids gebunden sind, als nicht-partikuläres Sorbens verwendet wird.

5

10

15

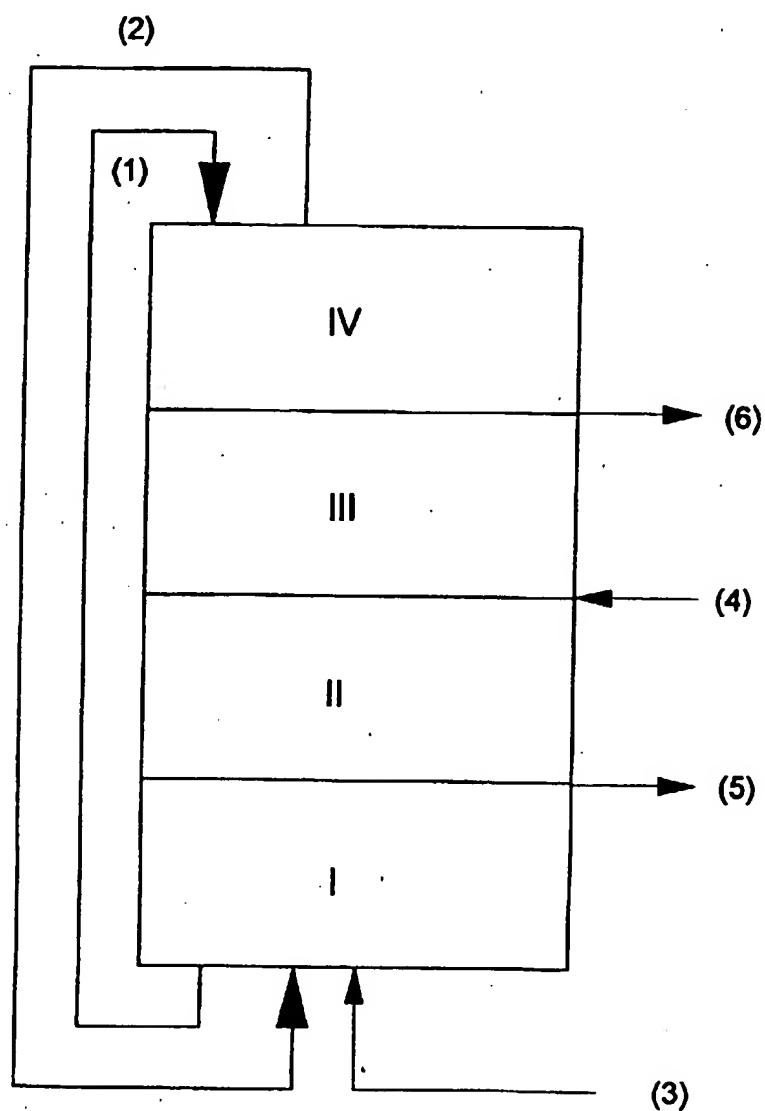
20

25

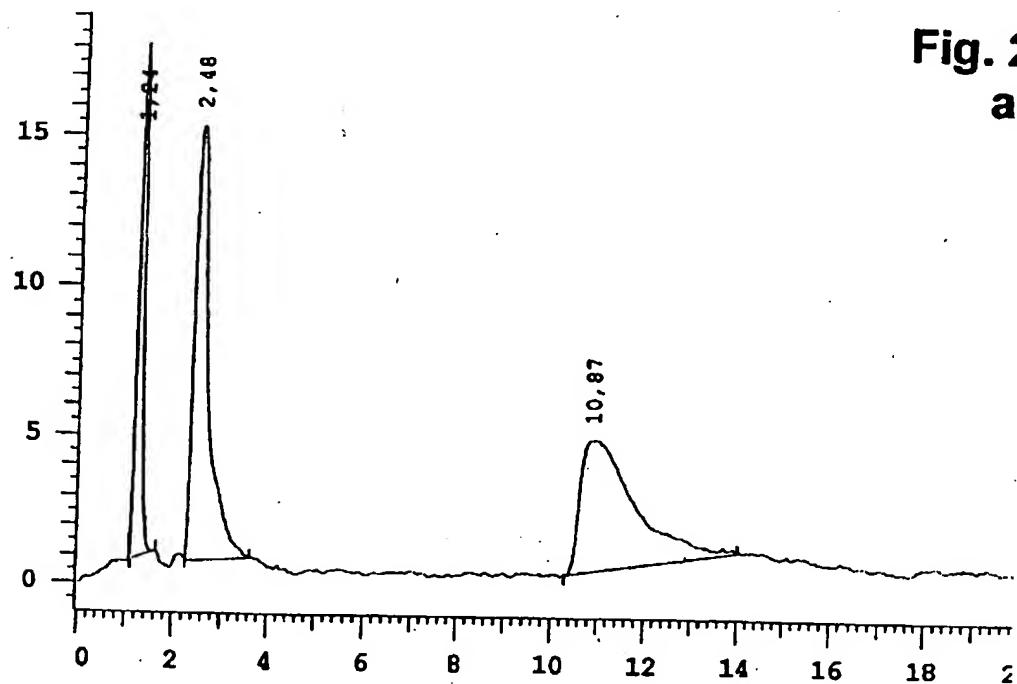
30

1/4

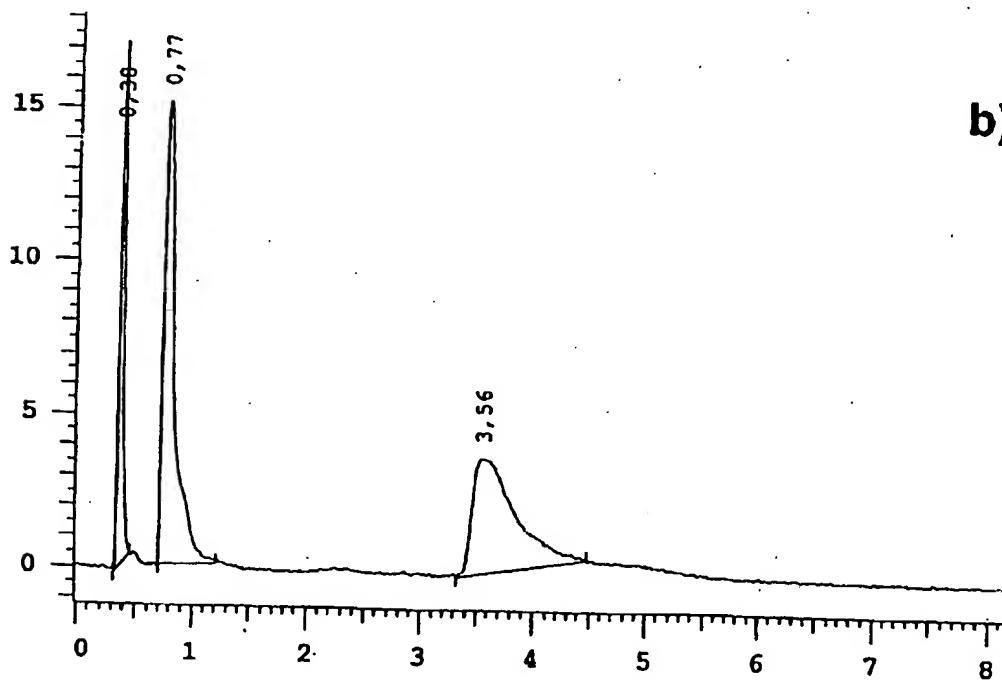
Fig. 1



2/4

Fig. 2
a)

b)



3/4

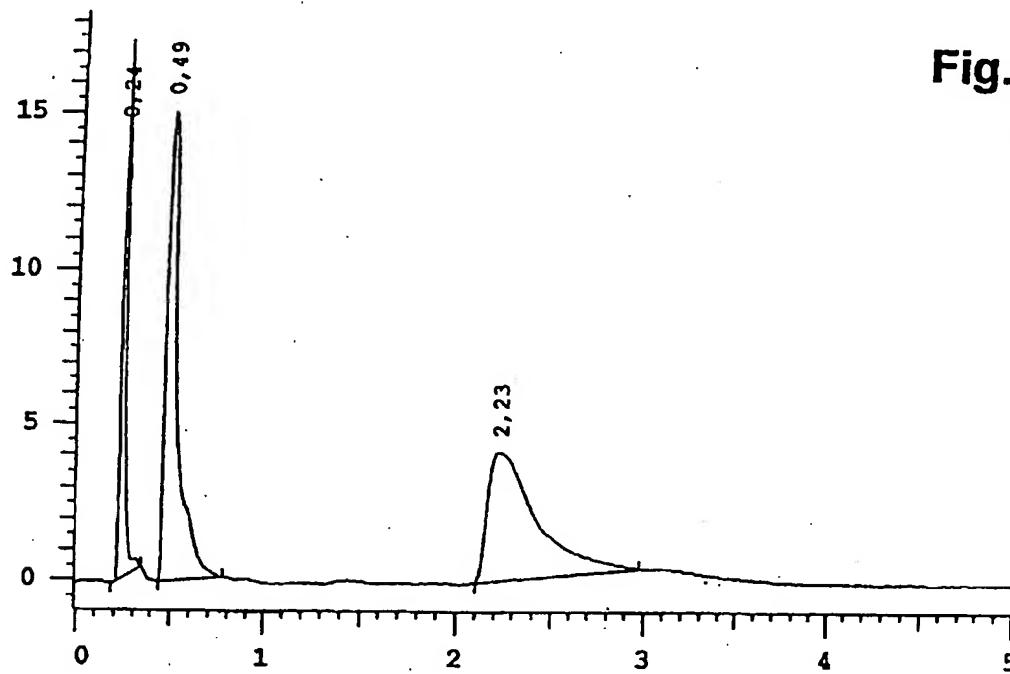


Fig. 2
c)

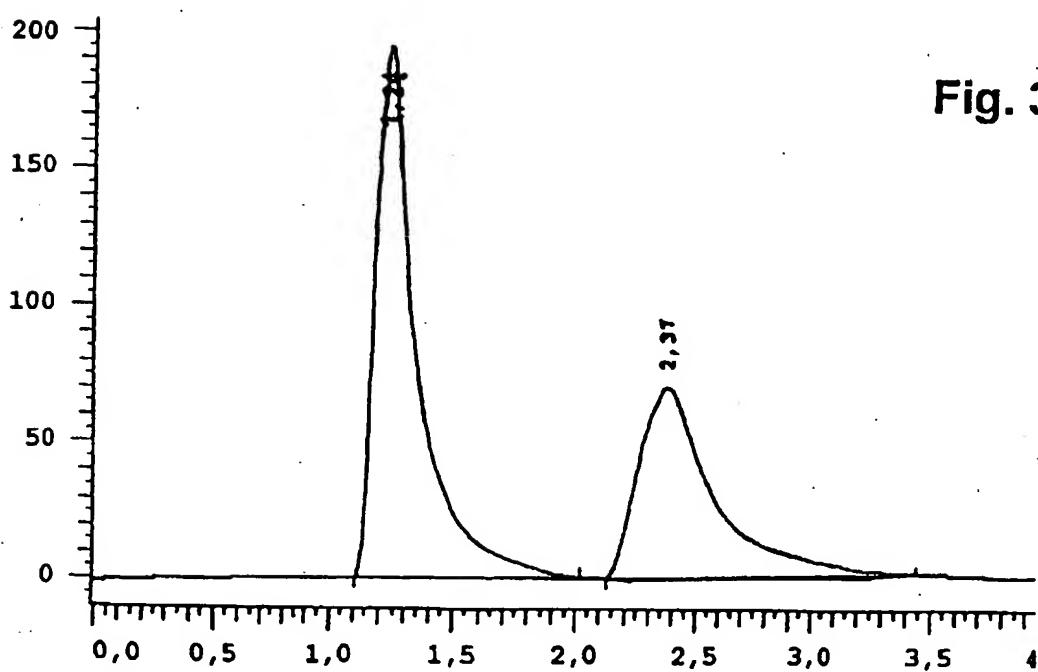


Fig. 3

4/4

Fig. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 97/03601

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 6 B01D15/08 B01J8/04 B01D53/04 G01N30/48		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 6 B01D B01J G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 533 398 A (NEUZIL RICHARD W ET AL) 6 August 1985	1,4
Y	see column 6, line 11-34 see column 10, line 41 - column 11, line 66 ---	2,5
Y	WO 95 03256 A (MERCK PATENT GMBH ;NAKANISHI KAZUKI (JP); SOGA NAOHIRO (JP)) 2 February 1995 cited in the application see page 22, line 15-30; claims 1,2,5 ---	1,2,4,5
Y	US 2 985 589 A (BROUGHTON DONALD B ET AL) 23 May 1961 see figures ---	1,2,4,5 -/-
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		
<p>"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"8" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
14 October 1997		30.10.97
Name and mailing address of the ISA		Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Persichini, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 97/03601

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WO 94 19687 A (MERCK PATENT GMBH ; CABRERA KARIN (DE); SAETTLER GUNTHER (DE); WIE) 1 September 1994 cited in the application see page 1, line 18-31; claim 1</p> <p>---</p>	1,4
A	<p>DE 40 28 326 A (SARTORIUS GMBH) 14 March 1991 cited in the application see page 5, line 10-64 see page 10, line 37 - page 11, line 21</p> <p>-----</p>	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. Appl. No.
PCT/EP 97/03601

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4533398 A	06-08-85	US 4426232 A	17-01-84
WO 9503256 A	02-02-95	JP 6265534 A JP 7041374 A EP 0710219 A US 5624875 A	22-09-94 10-02-95 08-05-96 29-04-97
US 2985589 A	23-05-61	NONE	
WO 9419687 A	01-09-94	CZ 9502142 A EP 0686258 A	15-05-96 13-12-95
DE 4028326 A	14-03-91	DE 59009071 D WO 9103506 A EP 0490940 A US 5556708 A	14-06-95 21-03-91 24-06-92 17-09-96

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen
PCT/EP 97/03601

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 6 B01D15/08 B01J8/04 B01D53/04 G01N30/48		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchiertes Mindestprüftorff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 B01D B01J G01N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüftorff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 4 533 398 A (NEUZIL RICHARD W ET AL) 6.August 1985	1,4
Y	siehe Spalte 6, Zeile 11-34 siehe Spalte 10, Zeile 41 - Spalte 11, Zeile 66 ---	2,5
Y	WO 95 03256 A (MERCK PATENT GMBH ;NAKANISHI KAZUKI (JP); SOGA NAOHIRO (JP)) 2.Februar 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 22, Zeile 15-30; Ansprüche 1,2,5 ---	1,2,4,5
Y	US 2 985 589 A (BROUGHTON DONALD B ET AL) 23.Mai 1961 siehe Abbildungen ---	1,2,4,5
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen		<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweckmäßig erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen Gründen angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist		
* ^T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht konsolidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist * ^X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden * ^Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist * ^B Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
2	Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche 14. Oktober 1997	Abschlussdatum des Internationalen Recherchenberichts 30.11.97
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patenttaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Persichini, C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen
PCT/EP 97/03601

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGEGEHENE UNTERLAGEN

Kategorie?	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Zeile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 94 19687 A (MERCK PATENT GMBH ; CABRERA KARIN (DE); SAETTLER GUENTHER (DE); WIE) 1. September 1994 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 1, Zeile 18-31; Anspruch 1 ---	1,4
A	DE 40 28 326 A (SARTORIUS GMBH) 14. März 1991 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 5, Zeile 10-64 siehe Seite 10, Zeile 37 - Seite 11, Zeile 21 -----	1-6
2		

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 97/03601

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4533398 A	06-08-85	US 4426232 A	17-01-84
WO 9503256 A	02-02-95	JP 6265534 A JP 7041374 A EP 0710219 A US 5624875 A	22-09-94 10-02-95 08-05-96 29-04-97
US 2985589 A	23-05-61	KEINE	
WO 9419687 A	01-09-94	CZ 9502142 A EP 0686258 A	15-05-96 13-12-95
DE 4028326 A	14-03-91	DE 59009071 D WO 9103506 A EP 0490940 A US 5556708 A	14-06-95 21-03-91 24-06-92 17-09-96